

УДК 616.24-002-056.3-092:612.015.11]-092.4/9

Б.Я. Мелех, М.С. Регада, М.О. Качмарська

СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ ТА ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КРОВІ МОРСЬКИХ СВИНОК З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АЛЕРГІЧНИМ АЛЬВЕОЛІТОМ У РІЗНІ ПЕРІОДИ ЙОГО ФОРМУВАННЯ

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Резюме. У даній роботі встановлено, що за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту (ЕАА) зростає концентрація малонового альдегіду (МА). На 44-ту добу від початку експерименту знижується концентрація відновленого глутатіону та активності глутатіонпероксидази, що вказує на виснаження відновного потенціалу антиоксидантної глутатіонової системи. Отримані дані дозволяють зробити висновки, що в пато-

генезі ЕАА важливу роль відіграє дисбаланс між процесами перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантною системою, що призводить до порушення клітинного гомеостазу і розвитку оксидативного стресу.

Ключові слова: прооксидантна система, глутатіонова антиоксидантна система, експериментальний алергічний альвеоліт, глутатіон, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, глутатіонтрансфераза.

Вступ. Екзогенний алергічний альвеоліт відноситься до гетерогенної групи захворювань органів дихання, чинником яких є інгаляції різних алергенів органічного походження. З кожним роком кількість алергенів стрімко зростає, а з ними і збільшується кількість видів даного захворювання. В основі патології лежать запальні процеси імунноалергічного характеру, які призводять до ураження альвеол та термінальних бронхів і проявляються у вигляді дифузно-розсіяних альвеолітів [1, 2]. Як відомо, будь-який запальний процес характеризується порушенням регуляції кисневих процесів у клітині. Оксидативний стрес посідає важливу роль у патогенезі запальних захворювань бронхів та альвеол. Активні форми кисню здатні індукувати процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), які призводять до руйнації біологічних мембран, а відповідно і до серйозних метаболічних порушень, змін імунного статусу, порушення функціонального стану різних систем організму. Важливу роль у розвитку оксидативного стресу посідає рівновага синтезу прооксидантів та антиоксидантного захисту, зсув даної рівноваги в бік прооксидантів викликає компенсаторну активацію антиоксидантної системи від пошкоджувальної дії вільних радикалів та пероксидних сполук [7, 9].

Особливе значення при антиоксидантному захисті належить глутатіонівій антиоксидантній системі, оскільки відомо, що в будові сурфактанта лежить глутатіон [10]. Компонентами даної системи є метаболіт глутатіон та ферментативна ланка, а саме: глутатіонпероксидаза (ГПО), глутатіонтрансфераза (ГТ) та глутатіонредуктаза (ГР). Відновлена форма глутатіону (ВГ) за участю NADPH під впливом ГПО взаємодіє з вільними радикалами та інактивує токсичну дію вільних радикалів внаслідок окиснення глутатіону. Відновлюється окиснений глутатіон під впливом ГР, яка індукується за умов оксидативного стресу [8, 11, 12].

У доступній нам літературі відсутні дослідження, які стосуються вивчення стану глутатіо-

наної системи за умов розвитку екзогенного алергічного альвеоліту.

Мета дослідження. Оцінити стан глутатіонової антиоксидантної системи та процесів ПОЛ у крові морських свинок з експериментальним алергічним альвеолітом у різні періоди його формування.

Матеріал і методи. Експериментальні дослідження проведені на 31 морській свинці самця середньою масою тіла 280-320 г. Контрольна група складалася з 15 інтактних самців. Першу дослідну групу становили вісім тварин з ЕАА, які були виведені з експерименту на 34-ту добу від початку дослідження. Друга дослідна група містила вісім тварин з експериментальним алергічним альвеолітом (ЕАА), які були виведені з експерименту на 44-ту добу від початку дослідження. Усіх експериментальних тварин утримували в стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Експериментальний ЕАА відтворювався за методом О.О. Орехова, Ю.А. Кирилова [3]. Попередньо тварин імунізували повним ад'ювантом Фрейнда (0,2 мл у задню лапку внутрішньом'язово). Через два тижні після імунізації тваринам кожні 10 днів вводили внутрішньовенно по 0,2 мл 1 % розчину бацили Кальмета-Жерена (БЦЖ). Експериментальні тварини виводили з експерименту шляхом декапітації та визначали біохімічні показники відносно встановлених методик у гемолізаті еритроцитів та сироватці крові. Інтенсивність процесів оксидативного стресу оцінювали за активністю утворення основного продукту ПОЛ – МА, який визначали в сироватці крові методом Тімірбулатова Р.А. та Селезньова Є.І. [6]. Вміст ВГ визначали на основі реакції з реактивом Елмана [5]. Активність ГПО, ГТ та ГР визначали за методом Переслегіної І.А. [4].

Статистичну обробку даних проводили з використанням програми Statistica 6.0.

Результати дослідження та їх обговорення. Проведені експериментальні дослідження показа-

Таблиця

Зміни в системі антиоксидантної глутатіонової системи та процесах перекисного окиснення в крові морських свинок з експериментальним алергічним альвеолітом у різні періоди його формування

Група \ Показник	МА нмоль/мл	ВГ ммоль/л	ГПО ммоль/хв•г Нб	ГР мкмоль НАД- ФН ₂ / хв•г Нб	ГТ мкмоль GSSG/ хв•г Нб
Контрольна група (інтактна група тварин), (n=15)	4,39±0,67	4,57±0,43	319,22±37,27	4,12±0,35	3,32±0,49
Перша дослідна група, 34-та доба (n=8)	6,18±1,07*	4,37±0,53	364,32±38,12*	3,90±0,56	3,40±0,45
Друга дослідна група, 44-та доба (n=8)	6,49±1,13*	3,13±0,51*	278,25±35,03*	3,05±0,52*	3,41±0,43

Примітка. * - достовірність (p<0,05) порівняно з контрольною групою тварин

ли, що глутатіонова антиоксидантна система активно реагує на процеси, зумовлені оксидативним стресом за умов розвитку ЕАА. Отримані дані в ході експерименту представлені в таблиці.

Результати проведених лабораторних досліджень засвідчили достовірне зростання концентрації МА на 40,77 % (p<0,05) у першій дослідній групі та на 47,84 % (p<0,05) – у другій дослідній групі при порівнянні з контролем. Зростання концентрації МА, як кінцевого продукту ПОЛ, вказує, що на 34-ту та 44-ту доби у крові морських свинок за умов розвитку ЕАА зростає концентрація прооксидантів (вільних радикалів), які посилюють інтенсивність перебігу процесів ПОЛ. Такий зсув системного метаболізму в прооксидантний бік супроводжується активацією компонентів антиоксидантної глутатіонової системи на 34-ту добу. На це вказує достовірне зростання активності ГПО на 14,13 % (p<0,05) у першій дослідній групі порівняно з контролем. Пізніше на 44-ту добу спостерігається зниження активності ГПО на 12,82 % (p<0,05) та зниження концентрації ВГ на 25,97 % (p<0,05) порівняно з інтактними тваринами. Дані зміни вказують, що на 44-ту добу за умов розвитку ЕАА у морських свинок відбувається виснаження компенсаторних механізмів глутатіонової антиоксидантної системи. Окрім того, спостерігалось достовірне зниження активності ГР на 25,97 % (p<0,05) лише у другій дослідній групі проти першої групи тварин, що вказує на депресію метаболіту глутатіону, а відповідно знижується відновний потенціал неферментативної ланки антиоксидантного захисту глутатіонової системи. У ході експерименту достовірної різниці в активностях ГТ дослідних груп проти інтактних тварин не виявлено, відповідно детоксикаційна функція антиоксидантної глутатіонової системи істотних змін не зазнавала.

Висновок

Підсумовуючи вищевикладене, можна стверджувати, що в патогенезі розвитку експериментального алергічного альвеоліту в морських свинок важливу роль відіграють процеси перекисного окиснення ліпідів. Зсув гемостазу в прооксидант-

ний бік супроводжується активацією компонентів антиоксидантної глутатіонової системи. На 44-ту добу в морських свинок з експериментальним алергічним альвеолітом відбувається виснаження антиоксидантного потенціалу глутатіонової системи та розвиток оксидативного стресу. Дані зміни вказують на доцільність використання в терапії експериментального алергічного альвеоліту засобів з антиоксидантними властивостями.

Перспективи подальших досліджень.

Метою наступного нашого дослідження буде вивчення стану антиоксидантної глутатіонової системи та процесів перекисного окиснення ліпідів у легенях морських свинок за умов розвитку екзогенного алергічного альвеоліту в різні періоди його формування.

Література

1. Екзогенний алергічний альвеоліт: монографія / [М.С. Регада, Р.Ю. Гришко, І.Г. Гайдучок та ін.]. [2-ге видання, доповнене і перероблене]. – 2007. – 200 с.
2. Илькович М.М. Экзогенный аллергический альвеолит / М.М. Илькович, Л.Н. Новикова; под ред. М.М. Ильковича, А.Н. Кокосова // Интерстициальные заболевания легких. – СПб., 2005. – С. 183-211.
3. Орехов О.О. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллергическом альвеолите / О.О. Орехов, Ю.А. Кирилов // Арх. патол. – 1985. – № 10. – С. 54-61.
4. Переслегина И.А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей / И.А. Переслегина // Лаб. дело. – 1989. – № 11. – С. 20-23.
5. Путилина Ф.Е. Определение содержания восстановленного глутатиона в тканях // Кн.: Прохорова М.Л. (ред.). Методы биохимических исследований. – Ленинградский университет. – 1982. – С. 183-187.
6. Тимирбулатов Р.А. Метод повышения интенсивности свободных радикалов окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение / Р.А. Тимирбулатов, Е.И. Селезнев // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209-211.
7. Чучалин А.Г. Диагностика респираторных заболеваний / А.Г. Чучалин // Респираторная медицина. Руководство. – М., 2007. – Т. 1. – С. 231-238.
8. Enhanced sensitivity to oxidative stress in transgenic tobacco plants with decreased glutathione reductase activity leads to a decrease in ascorbate pool and ascorbate redox state / S. Ding, Q. Lu, Y. Zhang [et al.] // Plant Mol. Biol. – 2009. – Vol. 69. – P. 577-592.

9. Fernandez N. Blood and endothelium in immune complex-mediated tissue injury / Nieves Fernandez, Sonia Jancar, Mariano Sanches Crespo // *TRENDS in Pharmaceutical Sciences*. – 2004. – № 10. – P. 512-517.
10. Nauser T. The kinetics of oxidation of GSH by protein-bound radicals / T. Nauser, W.H. Koppenol, J.M. Gebicki // *Biochem. J.* – 2005. – Vol. 392. – P. 693-701.
11. Strange R.C. Glutathione S-transferase: genetics and role in toxicology / R.C. Strange, P.W. Jones, A.A. Fryer // *Toxicol. Lett.* – 2000. – Vol. 112, № 3. – P. 357-363.
12. Warner D.S. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain / D.S. Warner, H. Sheng, I. Batinic // *The J. of Experimental Biology* – 2004. – Vol. 207. – P. 3221-3231.

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ И ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КРОВИ МОРСКИХ СВИНОК С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ АЛЬВЕОЛИТОМ В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ЕГО ФОРМИРОВАНИЯ

Б.Я. Мелех, М.С. Регеда, М.О. Качмарская

Резюме. В данной работе установлено, что в условиях развития экспериментального аллергического альвеолита (ЭАА) возрастает концентрация малонового альдегида (МА). На 44-е сутки от начала эксперимента снижается концентрация восстановленного глутатиона и активности глутатионпероксидазы, что указывает на истощение восстановительного потенциала антиоксидантной глутатионовой системы. Полученные данные позволяют сделать вывод, что в патогенезе ЭАА важную роль играет дисбаланс между процессами перекисного окисления липидов и антиоксидантной защитой, что приводит к нарушению клеточного гомеостаза и развитию оксидативного стресса.

Ключевые слова: прооксидантная система, глутатионовая антиоксидантная система, экспериментальный аллергический альвеолит, глутатион, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансфераза.

GLUTATHIONE ANTIOXIDANT SYSTEMS AND PROCESSES OF LIPID PEROXIDATION IN GUINEA PIGS BLOOD WITH EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS IN DIFFERENT PERIODS OF ITS FORMATION

B. Ya. Melekh, M.S. Regeda, M.O. Kachmarska

Abstract. In this study it was found, that under the conditions of development of experimental allergic alveolitis (EAA) the concentration of MA was increased. On the 44th day of the experiment the concentration of reduced glutathione and glutathione peroxidase activity were decreased, indicating the depletion of reduction potential of the antioxidant glutathione system. The findings allow of concluding, that imbalance between lipid peroxidation and antioxidant protection plays an important role in the pathogenesis of EAA, which leads to disruption of cellular homeostasis and development of oxidative stress.

Key words: prooxidant system, glutathione antioxidant system, experimental allergic alveolitis, glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione transferase

Danylo Halytsky National Medical University (Lviv)

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 98-100

Надійшла до редакції 14.10.2013 року

© Б.Я. Мелех, М.С. Регеда, М.О. Качмарська, 2013

УДК 616.36-002:615.032-547.261-076-092.9

Н.И. Молчанюк

УЛЬТРАСТРУКТУРА ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС В РАННИЕ СРОКИ ПОСЛЕ ВНУТРИБРЮШИННОГО ВВЕДЕНИЯ МЕТАНОЛА

ГУ "Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины", г. Одесса

Резюме. Электронно-микроскопически исследовались гепатоциты (ГП) крыс линии Вистар через 25 и 40 минут, 1 и 3 суток после однократного внутрибрюшинного введения метанола из расчета 0,75 г/кг массы тела. Показано, что в ГП в динамике исследования развивается ряд альтернативных изменений, однако они охватывают лишь часть клеток печени и носят, в основном, реактивный характер. Метанол, в первую очередь, вы-

зывает изменения ультраструктуры митохондрий, что свидетельствует о ранних нарушениях энергетических процессов в клетках печени, а также изменения количества и структурных особенностей гранул гликогена, указывающих на влияние этого токсического вещества на углеводный обмен в печени.

Ключевые слова: гепатоциты, метанол, ультраструктура.

© Н.И. Молчанюк, 2013